

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-331702
(43)Date of publication of application : 30.11.2000

(51)Int.Cl. H01M 8/06
C01B 3/02
C01B 3/22
C12M 1/00
C12M 1/107
C12N 1/00
H01M 8/10

(21)Application number : 11-143172 (71)Applicant : ASAHI GLASS CO LTD
(22)Date of filing : 24.05.1999 (72)Inventor : TAGUCHI FUMIAKI
YOSHITAKE MASARU
OOBA MASATAKA
YOSHIDA NAOKI
KUNIHARA YASUHIRO
TANAKA HIROMI

(54) LOW TEMPERATURE OPERATING GENERATOR

(57)Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To stably a high output power for a long period with a small size by supplying the hydrogen generated by culturing anaerobic bacteria having hydrogenase under the presence of a substrate in a hydrogen generator to a fuel cell.

SOLUTION: A fixed polymer electrolytic fuel cell operating at a low temperature of 0-150° C is preferably used from the point of high output, hydrogen is supplied to one of gas diffusive electrodes on both sides of the solid polymer film, and oxygen or air is supplied to the other. Hydrogenase possessed by anaerobic bacteria functions as a catalyst that acts on a substrate to generate hydrogen. As the anaerobic bacteria, clostridium is preferably used to generate hydrogen from a substrate of sugar, such as dextran or cellulose such as newspaper with high efficiency and high generation speed. The generated hydrogen is free of poisoning of anode catalyst, because it contains no carbon monoxide and dispenses with heating device because it contains moisture. It is useful to have a hydrogen storage apparatus, containing a mixture of a hydrogen storage alloy with activated charcoal provided and the hydrogen discharge quantity according to the temperature is controlled.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-331702

(P2000-331702A)

(43)公開日 平成12年11月30日(2000.11.30)

(51)IntCl ⁷	識別記号	FI	特許出願公開番号(参考)
H01M 8/06		H01M 8/06	R 4B029
C01B 3/02		C01B 3/02	Z 4B065
	3/22		Z 4G040
C12M 1/00		C12M 1/00	C 5H026
	1/107		5H027
審査請求 未請求 請求項の数5 OL (全4頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願平11-143172

(22)出願日 平成11年5月24日(1999.5.24)

(71)出願人 000000044

旭硝子株式会社

東京都千代田区有楽町一丁目12番1号

(72)発明者 田口 文章

神奈川県相模原市陽光台5-14-1

(72)発明者 吉武 肇

神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1150番地

旭硝子株式会社内

(72)発明者 大場 優孝

東京都千代田区丸の内二丁目1番2号 旭

硝子株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 低温作動発電装置

(57)【要約】

【課題】長期間安定に高出力の電力を供給でき、ポータブル発電装置として使用できる小型の低温作動発電装置の提供。

【解決手段】燃料電池と該燃料電池に水素を供給する水素発生装置とを備え、該水素発生装置では、ヒドロゲナーゼを有する嫌気性菌(例えばクロストリジウム属に属する菌)を基質の存在下で培養することにより水素を発生させる低温作動発電装置。

(2)

【特許請求の範囲】

【請求項1】燃料電池と該燃料電池に水素を供給する水素発生装置とを備え、該水素発生装置では、ヒドロゲナーゼを有する嫌気性菌を基質の存在下で培養することにより水素を発生させることを特徴とする低温作動発電装置。

【請求項2】前記嫌気性菌は、クロストリジウム属に属する菌である請求項1に記載の低温作動発電装置。

【請求項3】燃料電池と該燃料電池に水素を供給する水素発生装置とを備え、該水素発生装置では、ヒドロゲナーゼを有する嫌気性菌AK-02（受託番号：FERMP-17070）を基質の存在下で培養することにより水素を発生させることを特徴とする低温作動発電装置。

【請求項4】低温作動発電装置が水素貯蔵器を備える請求項1、2又は3に記載の低温作動発電装置。

【請求項5】燃料電池が固体高分子電解質型燃料電池である請求項1、2、3又は4に記載の低温作動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は低温作動発電装置に関する。

【0002】

【従来の技術】商用電源を使用できない環境で電気を使用する場合には、通常電池が使用されるが、電池は使用できる電力に限りがある。充電式の二次電池は、充電することにより繰り返し使用できるが、充電するためには他の電源が必要であり、充電する時間も必要である。また、上記二次電池により使用できる電力は小さい。

【0003】そのため、ある程度大きな電力を長時間必要とする場合は、主としてエンジン発電機を用いたポータブル発電装置が用いられており、工事現場や夜店等で活用されている。しかし、上記ポータブル発電装置は、エンジン発電機からの騒音、排ガスの発生等の問題があるため、屋内やキャンプ場等での使用には必ずしも適していない。

【0004】上記問題を解決するため、水素を燃料とする燃料電池を用いた発電装置の開発が進められている。通常、燃料電池を用いた発電装置では、水素は、水素ボンベや、水素吸蔵合金を充填した水素貯蔵器から供給されるが、これらを安全に取り扱うためには、そのための知識と注意が必要である。

【0005】また、このほかに、メタノールやブタン等の改質反応により得られた水素を供給する方法が考えられる。しかし、改質反応により得られる水素には一酸化炭素が混在しており、一酸化炭素は燃料電池のアノード触媒を被毒させて電池の出力を低下させるので、一酸化炭素除去装置により除去する必要がある。また、発電装置を室内で作動させる場合は、一酸化炭素の人体への影響の考慮から、一酸化炭素が外部に漏れた場合の安全装

置も必要となる。したがって、水素を供給するシステム全体としては大きなものとなる。

【0006】また、燃料電池としては、低温作動、高出力及び高速起動が可能であることから、固体高分子電解質型燃料電池を用いるのが好ましい。しかし、上記燃料電池においては、電解質である固体高分子を加湿する必要があり、通常加湿した水素を供給する方法が採用される。そのため、固体高分子電解質型燃料電池を用いる場合は、水素の加湿装置が必要となり、システムが大きくなる。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、長期間安定に高出力の電力を供給でき、ポータブル発電装置として良好に使用できる小型の低温作動装置を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、燃料電池と該燃料電池に水素を供給する水素発生装置とを備え、該水素発生装置では、ヒドロゲナーゼを有する嫌気性菌を基質の存在下で培養することにより水素を発生させることを特徴とする低温作動発電装置を提供する。

【0009】本発明の低温作動発電装置は、燃料電池と水素発生装置とを備え、水素発生装置で発生させた水素を燃料ガスとして燃料電池に供給している。

【0010】本発明における燃料電池は低温で作動するものであり、具体的には0℃～150℃で作動するものが好ましく、特に25～100℃で作動するものが好ましい。この点で、リン酸を電解質とするリン酸型燃料電池及び固体高分子電解質型燃料電池が使用でき、高出力が得られることから固体高分子電解質型燃料電池が好ましい。

【0011】固体高分子電解質型燃料電池は、電解質である固体高分子膜の両面にガス拡散性の電極層が配置されてなり、一方の電極に燃料である水素を供給し、他方の電極に酸化剤、例えば酸素、空気等を供給し作動させる。

【0012】電解質である固体高分子膜としては、通常厚さ50～200μmのプロトン伝導性イオン交換膜が用いられ、出力密度が高く耐久性に優れる点から好ましくはスルホン酸基を有するパーフルオロカーボン重合体（水素原子がフッ素原子に全て置換されていれば、例えばニテル結合性の酸素原子等を含んでもよい。）からなるイオン交換膜が用いられる。

【0013】本発明における水素発生装置では、ヒドロゲナーゼを有する嫌気性菌（以下、単に嫌気性菌と称する）を基質の存在下で培養し、ヒドロゲナーゼを基質に作用させることにより水素を発生させる。ヒドロゲナーゼとは、水素による電子受容体の還元とその逆反応による水素発生において触媒として機能する酵素をいい、嫌気性菌に保持されるヒドロゲナーゼは、水素を発生させ

(3)

るときに触媒として機能する。

【0014】嫌気性菌としては、クロストリジウム属、シトロバクター属、デサルフォビブリオ属に属する菌が好ましい。なかでも、クロストリジウム属に属する菌は、糖やセルロース等から高い効率で水素を発生させることができ、水素生成速度が速いので好ましい。具体的には、野生のシロアリから単離した、*Clostridium* sp. X53株(J. Ferment. Bioeng., 81(2), 178-180(1996)、以下文献1という)、*Clostridium* sp. No. 2株(Can. J. Microbiol., 40, 228-233(1994)、以下文献2という)、*Clostridium beijerinckii* AM株(Can. J. Microbiol., 39, 726-730(1993))が好ましい。これらの菌は、市販の嫌気性菌同定キットAPIA20(アスカ純薬社製)によりクロストリジウム属であることが同定されている。

【0015】なお、本発明における水素発生装置では、嫌気性菌中から取り出したヒドコゲナーゼのみを基質の存在下に培養し、水素を発生させることもできる。

【0016】基質としては種々のものを使用できるが、アラビノース、セルビオース、フルクトース、ガラクトース、グルコース、ラクトース、スターチ、キシロース、アビセル、セルロース、キシラン、デキストラン等が好ましい。なかでもデキストランを使用すると水素発生量が多く、例えばグルコースを使用した場合の2倍以上の量の水素が得られるので、特に好ましい。また、セルロースとしては、例えば印刷用の紙、コピー用紙、新聞紙等も使用できる。

【0017】嫌気性菌を培養する培地としては、通常使用されるものが使用でき、例えばPY液体培地等の液体培地、PY寒天培地等の半固形培地や固形培地が使用される。なお、PY培地とは、ペプトンとイーストエキスを含む培地を示す。

【0018】嫌気性菌の培地の温度は嫌気性菌の種類によって異なるが、25~55℃が好ましく、特に30~40℃が好ましい。この温度範囲では発酵が効率良く行われ、水素の生成速度が速くなる。また、培地のpHも嫌気性菌の種類によって異なるが、4.0~6.0、特に4.5~5.5であるのが好ましい。pHが上記範囲内であると水素の発生量を多くできる。

【0019】本発明の低温作動発電装置は、燃料電池、水素発生装置に加え、水素貯蔵器を備えることが好ましい。水素貯蔵器を備えることにより、水素発生装置の水素供給能力を超える量の水素を供給する必要が生じた場合にも対応できる。水素貯蔵器としては、ミッシュメタル、LaNi₅系合金、FeTi系合金又はMg系合金等の水素吸蔵合金と活性炭等の高比表面積の材料との混合物を器に充填して用いることが好ましい。

【0020】本発明における水素貯蔵器は、温度を制御することにより水素の放出量を制御できる。すなわち、温度を高くすると水素の放出量は増加し、温度を低くすると水素は放出されず水素貯蔵器内に蓄積される。水素貯蔵器の温度制御には、燃料電池の排熱を利用してもよい。また、燃料電池の排熱は水素発生装置の温度制御に利用してもよい。

【0021】

【実施例】[例1] 文献2に基づき、野生のシロアリより嫌気性菌を単離した。この嫌気性菌は文献1において*Clostridium* sp. X53株と名付けられているものである。この嫌気性菌の同定は、市販の嫌気性菌同定キットAPIA20(アスカ純薬社製)を用い、クロストリジウム属であることを確認した。この嫌気性菌をAK-02(受託番号:FERM P-17070)と名付けた。

【0022】次に、PY液体培地を作製した。PY液体培地は文献2にしたがい、ペプトンを10g、イーストエキスを5g、L-システイン塩酸塩を500mg、CaCl₂を8mg、MgSO₄を8mg、KH₂PO₄を40mg、NaHCO₃を400mg及びNaClを80mg含有する水溶液1Lに、グルコースを10重量%加えて作製した。また、同様にPY液体培地を作製した後、寒天を含有量が1.2重量%となるように添加し、PY寒天板状培地を作製した。

【0023】次いで、上記のPY液体培地及びPY寒天板状培地を、高圧蒸気滅菌器内で121℃にて30分間加熱して滅菌し、10重量%の塩酸水溶液又は10重量%の酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを4.8に調整した。

【0024】PY液体培地100mLに、PY寒天板状培地で生育させたAK-02を1白金耳植え付けて、40℃で終夜培養した。次いでこれに900mLのPY液体培地を混合してさらに終夜培養した。この培養液(PY液体培地と培養したAK-02)の全量を、水素発生用培地(PY液体培地9Lに、親水処理した比表面積1000m²/gの活性炭約50gと、基質となる分子量約40000のデキストラン約100gを添加した培地)に添加し、よく攪拌したものを水素発生装置とした。40℃における前記水素発生装置の水素の生成速度は、6L/hrであった。

【0025】次に固体高分子電解質型燃料電池を作製した。電解質としては厚さ30μmのスルホン酸基を含有するパーフルオロカーボン重合体からなるイオン交換膜(商品名:フレミオン、旭硝子社製)を用いた。水素極としては、電極有効面積が50cm²であり、ガス拡散電極中の白金量が見かけ表面積あたり2mg/cm²であるガス拡散電極を使用した。また、空気極としては、電極有効面積が50cm²であり、ガス拡散電極中の白金量が見かけ表面積あたり1mg/cm²であるガス拡

散電極を使用した。

【0026】ホットプレス法にて、上記イオン交換膜を間に介して上記水素極と上記空気極を接合し、電極-膜の接合体を作製した。この電極-膜の接合体をセパレータを介して20個積層し、固体高分子型燃料電池とした。

【0027】次に、水素発生装置から発生させた水素が、固体高分子電解質型燃料電池の水素極側に供給されるように水素発生装置と固体高分子電解質型燃料電池を接続した。水素極には水素発生装置から水素を、空気極には空気を供給し、常圧、70℃にて固体高分子電解質型燃料電池の発電試験を実施した。水素の生成速度は定常的に6L/hrであり、5Wの電力が安定に得られた。また、サージ出力は100Wであった。なお、水素発生装置から発生する水素には室温において約0.05atmの水蒸気が含まれていた。

【0028】[例2]水素貯蔵器として、水素吸蔵合金である $MmNi_5$ (Mm :ミッシュメタル) 1kgを充填した容器を準備した。上記水素貯蔵器を、例1で用いた水素発生装置と固体高分子電解質型燃料電池の間に配し、水素発生装置及び固体高分子電解質型燃料電池のそれぞれに接続した。固体高分子電解質型燃料電池を動作させる前に、水素発生装置を用いて約10時間水素を製

造し、約50Lの水素を水素貯蔵装置に貯蔵させた後、例1と同様に発電試験を実施した。水素の生成速度は定常的に6L/hrであり、5Wの電力が安定に得られた。また、サージ出力は300Wであった。

【0029】

【発明の効果】本発明における水素発生装置で製造される水素中には一酸化炭素は含有されないため、アノード触媒が被毒するおそれがなく安定した出力が得られる。また、嫌気性菌を含有する水溶液から水素を発生させるため、水素は水分を含有しており、水素の加湿装置を別に設ける必要がない。したがって、水素発生装置を全体として小型化できる。

【0030】また、水素は空気と接触すると爆発する可能性があるため、従来の燃料電池を使用する発電装置では種々の安全対策をとる必要があるが、本発明では嫌気性菌は空気と接触すると水素の生成を停止するので安全性が高い。また、基質として用いられる糖類、セルロース、アルコール類は人体に対する有害性がきわめて低いため、取り扱いや廃棄が容易である。

【0031】したがって、本発明によれば、長期間安定に高出力の電力を供給でき、かつポータブル発電装置として使用できる小型の低温作動発電装置を提供できる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

C12N 1/00

H01M 8/10

FI

C12N 1/00

H01M 8/10

テーム(参考)

P

(72)発明者 吉田 直樹
神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1150番地
旭硝子株式会社内

(72)発明者 国狭 康弘
神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1150番地
旭硝子株式会社内

(72)発明者 田中 博己
神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1150番地
旭硝子株式会社内

Fターム(参考) 4B029 AA02 AA03 AA27 BB02 CC04

CC10 DA01 DG10 EA20

4B065 AA23X BB12 BB15 BB19

BC42 CA01 CA60

4G040 BA03 BB03 DA01 DA05 DC01

DC07

5H026 AA06 BB00 EE00 HH08

5H027 AA04 DD00

⑨ 日本国特許庁 (JP)
⑩ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開
昭58—60992

⑫ Int. Cl.³
C 12 P 3/00
//C 12 P 3/00
C 12 R 1/89)

識別記号

庁内整理番号
6760—4B

⑬ 公開 昭和58年(1983)4月11日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 緑藻による明暗サイクル利用水素生産方法

大阪市東淀川区東淡路4丁目33
番13号

⑮ 特 願 昭56—161500
⑯ 出 願 昭56(1981)10月8日
⑰ 発 明 者 三浦喜温
西宮市甲陽園目神山町1—700
⑱ 発 明 者 宮本和久

⑲ 発 明 者 八木清仁
箕面市新稲1—8—11桜井荘
⑳ 出 願 人 三浦喜温
西宮市甲陽園目神山町1—700
㉑ 代 理 人 弁理士 青山 稔 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

緑藻による明暗サイクル利用水素生産方法

2. 特許請求の範囲

1. 水素発生能を有する緑藻を、明好気条件下に水中で培養するサイクルと暗好気条件下に水中で培養するサイクルを交互に繰り返すことにより、明好気条件下の培養中に光合成を行なわせ、暗好気条件下の培養中に光合成により蓄積した物質を分解して水素を発生させることを特徴とする明暗サイクルを利用した緑藻による水素生産方法。

2. 明好気条件下の培養中、水中に空気と二酸化炭素の混合ガスを通気する特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

3. 二酸化炭素と空気の容量比が2:9.8~10:9.0である特許請求の範囲第2項記載の水素生産方法。

4. 暗好気条件下の培養を、気相中に0.30容積%を超えない酸素を存在させて開始し、微量

酸素を含む窒素雰囲気下に行なう特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

5. 対数増殖期の緑藻を用いる特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

6. 対数増殖期中期の緑藻を用いる特許請求の範囲第5項記載の水素生産方法。

7. 緑藻がクラミドモナス・ラインハルディー (*Chlamydomonas reinhardtii*) である特許請求の範囲第1項、第5項または第6項記載の水素生産方法。

8. 各サイクルでの培養温度が15~40℃である特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

9. 各サイクルでの培養温度が25~35℃である特許請求の範囲第8項記載の水素生産方法。

10. 暗好気条件下の培養を、攪拌または振盪しながら行なう特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

11. 明暗サイクルが昼夜サイクルである特許請求の範囲第1項記載の水素生産方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、明暗サイクルを利用した緑藻による水素生産方法に関する。

近年、石油や石炭などの化石燃料に替わるクリーンエネルギー源として水素が注目を集めている。水素エネルギーは、(1)燃料電池を使えば高効率で電気エネルギーへ変換することが可能である、(2)単位重量当りの発熱量が石油の8~4倍に達し、しかも燃焼しても水となるだけで環境汚染の恐れがない、(3)原料である水は無尽蔵に近い、などの特徴を有している。この様な水素を太陽エネルギーを利用して生産しようとする試みが、半導体を用いた水分解などの非生物学的な方法と光合成生物を利用する生物学的な方法の両面から進められている。後者の生物学的な方法に関しては、水分解能を有する高等植物および藻類の代謝を制御することにより、または水素発生能を有する微生物と組み合わせることにより水の生物学的な光分解による水素生産を行なう系が提案されている。しかし、従来の系では水分解の結果生じる酸素は水素発生系(ヒドロゲナーゼ)に対し失活ないし阻害作用を

もたらし、不安定性の主要因となることに加え、水素の分離、精製が煩雑であり、水素-酸素混合ガスの爆発の危険性があるなど、実用的な水素生産方法とはいえない。

本発明者らは、優れた生産性と持続性を有する生物学的な水素生産方法を開発すべく研究を行なった結果、特定の系では酸素の発生と水素の発生を時間的に分離することにより、効率的に水素を生産できることを見出し本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明の要旨は、水素発生能を有する緑藻を、明好気条件下に水中で培養するサイクルと暗好気条件下に水中で培養するサイクルを交互に繰り返すことから成り、明好気条件下の培養中に光合成を行わせ、暗好気条件下の培養中に光合成により蓄積した物質を分解して水素を発生させることを特徴とする明暗サイクルを利用した緑藻による水素生産方法に存する。

本発明で使用する緑藻は、水素発生能を有するものならいずれてもよいが、就中クラミドモナス

ラインハルディー(*Chlamydomonas reinhardtii*)が好ましい。緑藻は、いずれの増殖相(phase)のものも使用可能であるが、暗好気条件下での水素発生量(以下、暗水素発生量という。)が多くなることから、対数増殖期、特に対数増殖期中期のものが好ましく使用される。

本発明方法では、明好気条件下の培養中に光合成が行なわれてでん粉が緑藻内に蓄積され、暗好気条件下の培養中に蓄積されたでん粉が分解されて水素が発生する。

明好気条件下の培養は、適当な無機成分を含んだ培地中、光照射下、通気しながら行なう。培養温度は15~40℃、特に25~35℃が好ましい。通気する空気中に、2~5容量%の二酸化炭素を混合するとでん粉の蓄積量が増すので好ましい。適当な培地の一例は、ブリストルの改変培地(Modified Bristle Medium、以下、MBM培地という。)であり、これは次の組成を有する：
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 75 mg/l、 CaCl_2 2.75 mg/l、 KH_2PO_4 7.5 mg/l、 H_2O 10 mg/l、 K_2HPO_4 17.5 mg、 NaCl 25 mg/l

25 mg、Fe 溶液 0.1 ml/l、微量金属混合物A 5.1.0 ml/l、 Na_2CO_3 5.3 ml/lおよび NH_4Cl 2.68 mg/l。

暗好気条件下の培養は、微量の酸素を含む窒素雰囲気下、光を遮断して行なう。温度は15~40℃、特に25~35℃が好ましい。窒素雰囲気中に含まれる酸素の量は培養条件により異なるが、あまり多くなると水素発生系に阻害的に作用して好ましくなく、通常0.1容量%を超えないことが好ましい。暗条件での培養開始時に、0.80容量%を超えない、特に0.28容量%を超えない量の酸素を気相中に存在させると暗水素発生速度が増すので好ましい。また、暗水素発生量は培地を攪拌または振盪することにより増加する。

明暗サイクルは、人工的に作り出すこともできるが、昼夜の明暗サイクルに合わせるのが適当である。

本発明の方法では、太陽エネルギーを利用して非常に経済的にかつ効率的に水素を生産することができるだけでなく、明条件で増殖する緑藻を回

収してバイオマスなどの有用物質生産に用いることも可能である。また、暗条件下ではデンプンの分解により水素が発生すると共に、培養液中にエタノール、酢酸、グリセロール、乳酸、ギ酸などの有機物が蓄積されるので、これらを回収して利用すれば、本発明方法の経済性はさらに向上する。

次に実施例を示し、本発明方法を具体的に説明する。

実施例 1

明条件における培養

MBM 培地 700 ml を入れた内容積 1 l の培養ビンに緑藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 2.5 μ g dry wt./ml となる様に加え、18 W/m² の光照射下、約 30°C において、5 容積分の二酸化炭素を含む空気を 0.5 l/分の速度で通気し、空気雰囲気中で培養して増殖させる。

暗水素発生

藻を増殖させた後、培養ビンに窒素を吹込み嫌気条件にし、次いで光を遮断して約 30°C において攪拌しながら培養し、発生した水素量をガス

クロマトグラフィにより定量する。

上記の明条件における培養および暗水素発生を 12 時間周期で交互に行つた。

結果を第 1 図のグラフに示す。同グラフ中、○は水素発生量 (ml、左縦軸に示す)、●は藻体量 (OD₆₆₀、右縦軸に示す) を表わす。また、グラフ上端の L は明条件、D は暗条件を表わす。

この結果から、各暗水素発生期毎にほぼ一定量の水素が発生するが、藻体量の増加に比例した水素発生量の増加はないことが理解される。この理由としては、藻齡の問題、あるいは単位面積当りの受光量が一定であるため単位菌体当りに蓄積されるでん粉量が減少する可能性があることなどが考えられる。

実施例 2

暗条件で水素を発生させた後、明条件での培養の前に藻の一部を回収する以外は実施例 1 と同様の操作を繰り返した。結果を第 2 図のグラフに示す。グラフ中の記号は第 1 図のグラフと同様である。

実施例 3 および比較例 1 ~ 2

E. Coli IFO 12713 (乾燥菌体重量 10 mg に相当する量) を、第 1 表に示す誘導に必要な物質を含む基質溶液に入れ、気相を窒素または空気とし、35°C で 2 時間振とうした。なお、基質溶液は、実施例ではギ酸ナトリウム 50 mM、コハク酸ナトリウム 10 mM、0.2% カザミノ酸および 20 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) を含み、比較例では 50 mM グルコース、0.2% カザミノ酸および 20 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) を含んでいた。2 時間の誘導後、集菌し、リン酸緩衝液で 2 回洗浄した。この菌を 50 mM ギ酸ナトリウム溶液に入れ、気相を窒素とし、35°C で振とうし、発生する水素量をガスクロマトグラフィにより分析して formic hydrogenlyase 活性を測定した。結果を第 1 表に示す。

前述の様に、緑藻は暗嫌気条件下でギ酸、乳酸などの有機物を発酵産物として体外に放出する性質を有している。これらの有機物を基質として水素を発生する *E. Coli* または光合成細菌を本発明の水素生産方法と組み合わせれば、水素の生産性を向上させることができる。

たとえば、*E. Coli* は、formic hydrogenlyase という酵素系によつてギ酸を分解し、酵素を発生する。この酵素系は、通常嫌気条件下、グルコース、カザミノ酸存在下で誘導的に合成される。しかし、誘導量は嫌気度によつて著しく変化し、好気条件下では全く誘導されない。本発明者らは、嫌気度によつて誘導量が左右されない、すなわち大気下で誘導可能な方法を検討した結果、インデューサーとしてギ酸塩 (たとえばギ酸ナトリウム) および好気呼吸の電子供与体としてコハク酸ナトリウムを添加すれば、好氣的な培養により、グルコースを用いた嫌氣的誘導法に匹敵する高い formic hydrogenlyase 活性を有する菌が得られることを見出した。

第 1 表

インデューサー	条件	誘導 formic hydrogenlyase 量 (unit l)/mg. dry wt.)
ギ酸ナトリウム + コハク酸ナトリウム	好気	1.2
グルコース	嫌気	1.3
グルコース	好気	0

注1) 1 unit は、ギ酸を基質として1時間当り $1 \mu\text{mole}$ の水素を発生する酵素量。

クラミドモナス・ラインハルディを暗蔽好気条件下で12時間培養した後、遠心分離して菌体を除き、上清を、上述の方法により formic hydrogenlyase を好氣的に誘導した *E. Coli* に与えたところ、 $0.7 \mu\text{mole}$ のギ酸を含む上清から $0.63 \mu\text{mole}$ の水素を回収することができた。

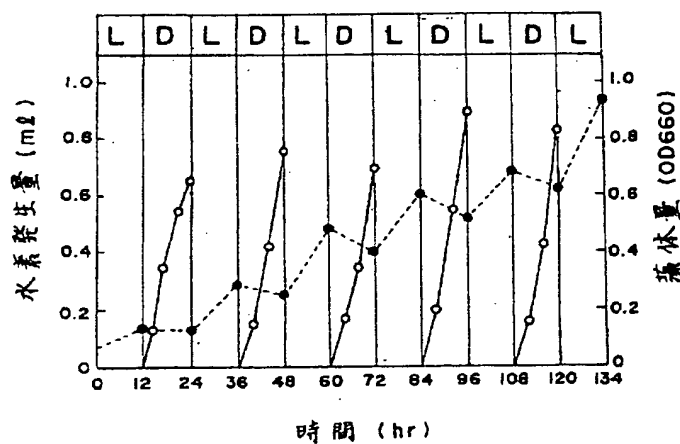
4. 図面の簡単な説明

第1図は、実施例1における水素発生量および菌体量変化を示すグラフ、第2図は、実施例2における水素発生量および菌体量変化を示すグラフである。

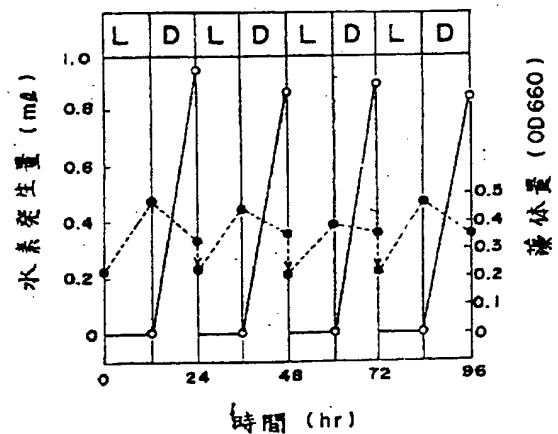
特許出願人 三 浦 喜 温

代 理 人 弁 理 士 青 山 保 (ほか2名)

第 1 図



第 2 図



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)